Studien

über das

Verhalten der Ptomaine

bei forensisch-chemischen Arbeiten.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

bei der

hohen philosophischen Fakultät der Universität Erlangen

vorgelegt von

K. Tamba aus Japan.

Erlangen 1886.

Druck der Universitäts-Buchdruckerei von E. Th. Jacob.

Studien

über das

Verhalten der Ptomaine

bei forensisch-chemischen Arbeiten.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

bei der

hohen philosophischen Fakultät der Universität Erlangen

vorgelegt von

K. Tamba aus Japan.

Erlangen 1886.

Druck der Universitäts-Buchdruckerei von E. Th. Jacob.

Die vorliegende Arbeit wurde im pharmaceutischen Institute und Laboratorium für angewandte Chemie der Universität Erlangen ausgeführt.

Die Gechichte der Ptomaine (Cadaveralkaloide) beginnt seit der Beobachtung Dupré's im Jahre 1866, dass in dem Organismus des Menschen und verschiedener Thiere eine Base zu finden sei, die dem Chinin ähnliche Reactionen zeige. Selmi's Beobachtung im Jahre 1873 (Berl. Ber. 1873. 142), dass in gefaultem und unter Umständen in frischen Eingeweiden eine Substanz mit Alkaloidcharakter vorkomme, regte zu allseitiger Forschung an und es folgten Mittheilungen von Rörsch, Fassbender (Berl. Ber. 1874. 1064) Schwanert (Berl. Ber. 1874. 1332.) in derselben Richtung. Die Jahre 1875 u. 1876 waren besonders für die Charakteristik der Ptomaine erfolgreich, indem in dieser Zeit die Giftigkeit derselben durch Moriggia und Batistini ausgesprochen wurde, anderseits Selmi in Hirn, Leber des Menschen ein dem Morphin ähnliches Alkaloid nachwies, sowie zur Charakteristik der Ptomaine im hohen Grade thätig war. Derselbe Forscher legte seine Erfahrungen hierüber in den Werken nieder: „Memorie sopra Argomenti tossicologici" 1878, sowie „Sulle Ptomaine e loro importanza in Tossicologia" 1878. „Ptomaine", Bologna 1881.

Das letzte Jahrzehnt, in welchem auch die Forscher auf dem Gebiete der Medicin sich den Ptomainen zuwandten, brachte reiches Material, dazu geeignet, allmählig zur Sonderung der so widersprechenden und unklaren Angaben anf diesem Gebiete beizutragen. Fs waren vor Allem die Arbeiten von Nencki (Zersetzung der Gelatine und des Eiweisses bei der Fäulniss mit Pancreas. Bern. 1876; Zur Geschichte der basischen Fäulnissproducte, Z. pract. Chem. 26. Bd.; Ueber die basischen Produkte der Fäulniss von Eiweisskörpern, sowie auch die neueren Arbeiten Brieger's

(Die Ptomaine Berlin 1885 Hirschwald's Verlag), welche unsere Kenntnisse über das Wesen der Ptomaine bereicherten.

Die Bedeutung der Ptomaine für die forensisch-chemische Praxis speciell beim Nachweise der Pflanzenalkaloide in Leichentheilen steht ausser allem Zweifel und verlangt deshalb die eingehendsten kritischen Untersuchungen. Auf Veranlassung von Professor Dr. A. Hilger begann ich eine grössere Versuchsreihe, welche beabsichtigte, einerseits zur Charakteristik der Ptomaine beizutragen, anderseits Methoden und Thatsachen zu finden, welche gestatten, die Ptomaine bei forensich-chemischen Arbeiten von allenfalls vorhandenen Pflanzenalkaloiden zu trennen. Zunächst war es meine Aufgabe, Ptomaine herzustellen, welche bei den analytischen Arbeiten eine Rolle spielen konnten. Zu diesem Zwecke wurden vorzugsweise Würste und zwar Leberwürste des Handels gewählt, welche zu nachstehenden Versuchen dienten.

I. Versuchsreihe.

Frische Leberwürste wurden direkt mit Schwefelsäure haltigem Alkohol wiederholt bei 60—70° C. extrahirt, der Auszug concentrirt und hierauf mit Wasser aufgenommen. Diese Lösung gab mit Gerbsäurelösung Fällung, ebenso Fällungen mit Quecksilberjodidjodkalium. Diese schwefelsaure wässerige Lösung wurde mit Magnesiumoxyd, später mit Kaliumhydroxyd destillirt. Das Destillat zeigte starke Reaktion mit Nessler's Reagens, sowie auch mit Wismuthjodidjodkalium. Gerbsäure, sowie die übrigen Alkaloidreagentien waren ohne Wirkung, speciell Tannin, phosphormolybdänsaures Natron, Quecksilberjodjodidkalium. Der Rückstand der Destillation, schwach alkalisch gemacht, wurde wiederholt mit Aether ausgeschüttelt. Die ätherischen Ausschüttelungen nach dem Verdunsten und Aufnahme des Verdunstungsrückstandes mit saurem Wasser zeigten eine kaum merkbare Alkaloidreaktion. Die Ausschüttelungen des alkalich gemachten Destillationsrückstandes wurden hiernach

mit Amylalkohol, auch Chloroform wiederholt behandelt, jedoch ohne dass eine alkaloidähnliche Substanz extrahirt werden konnte

Es reihte sich nun an diesen Versuch die direkte Extraction frischer Leberwürste mit siedendem Aether. Der ätherische Auszug wnrde mit angesäuerten Wasser wiederholt ausgeschüttelt und diese wässerige Lösung concentrirt. Dieselbe gab reichlich Reaktion mit allgemeinen Alkaloidreagentien. Die bei dieser Aetherextraction rückständig gebliebenen Wurstmassen wurden nun genau nach dem Stas-Otto'schen Verfahren mit Weinsäure enthaltendem Alkohol extrahirt. Bei dieser Arbeit zeigte sich, dass die ätherische Ausschüttelung aus der saueren wässerigen Lösung Nichts aufnahm, während die alkalische wässerige Lösung sowohl an Aether, als auch an Amylalkohol einen die Alkaloidreactionen zeigenden Körper abgab.

Diese Vorversuche gaben Veranlassung, frische Leber und zwar Schweinsleber einer eingehenden Prüfung zu unterziehen. Es wurde zunächst das Stas-Otto'sche Verfahren zur Extraction der feinzerschnittenen Materialien benützt und bei der Ausschüttellung der wässerigen schwach sauren und alkalischen Lösungen mit Aether, Amylalkohol und Chloroform Folgendes festgestellt:

1) Aether nimmt schon aus der sauren wässerigen Lösung einen Körper mit Alkaloidreaktion auf.

2) Amylalkohol, Chloroform, weniger Aether nehmen aus der alkalischen wässerigen Lösung einen Körper reichlich auf, der mit Jodlösung, Quecksilberjodidjodkalium, phosphormolybdänsaurem Natron, Tannin, ebenso Platinchlorid Fällung gab.

Die Platinchloridfällung gab bei Zusatz von Kaliumhydroxyd deutlich wahrnehmbaren Geruch nach Aminbasen. Die Isolirung dieses in sehr geringen Mengen in der frischen Schweineleber enthaltenen basischen Körpers wurde in der Weise durchgeführt, dass die aus alkalischem Wasserauszug mit den erwähnten Lösungsmitteln erhaltenen Auszüge mit schwefelsäurehaltigem Wasser ausgeschüttelt wurden. Diese

sauren Lösungen wurden concentrirt, mit basischen Bleiacetat gefällt, das Filtrat entbleit und hierauf verdampft. Dieser Rückstand wurde mit Alkali versetzt, wieder mit Chloroform behandelt und dieser Auszug endlich zur Verdunstung gebracht. Der erhaltene Rückstand von schwach gelber Farbe wurde nicht fest, blieb syrupartig und zeigte scharf nach Versuchen von Herrn Professor Dr. Filehne, welcher mich in liebenswürdigster Weise bei meinen Arbeiten unterstützte, die physiologischen Wirkungen der Ammoniumbasen, die sogenannte Curarewirkung, Lähmung der Endigungen der motorischen Nerven.

Durch die hier gewonnenen Resultate ist die Gegenwart, wenn auch nur in sehr geringer Menge eines basischen Körper in den frischen Leberwürsten festgestellt, der als Ammoniumbase sich charakterisirte, soweit die physiologische Wirkung in Betracht kommt. Die geringe Ausbeute des Körpers bei der Untersuchung der Leber machte es unmöglich, diesen basischen Körper chemisch näher aufzuklären.

II. Versuchsreihe.

Nachdem in der Versuchsreihe I gewonnenen Resultate schien es von Werth, den Nachweis zu führen, ob nicht flüchtige Ammoniumbasen neben flüchtigen als Bestandtheile der Leber in Betracht kommen. Zu diesem Zwecke wurden frische Leberwürste (circa 4—500 Gramm) mit dünner Kalkmilch in geringem Ueberschusse versetzt und das Gemenge mit Wasserdämpfen der Destillation unterworfen. Das Destillat wurde mit Salzsäure schwach angesäuert und stark concentrirt. Dasselbe gab deutlich Ammoniakreaktion und reichliche Fällung mit Platinchlorid. Diese Fällung wiederholt mit Wasser ausgekocht, hinterliess eine geringe Menge einer kristallinischen Masse, welche deutlich beim Uebergiessen mit Kaliumhydroxyd den charakteristischen Geruch des Trimethylammines zeigte.

Der Destillationsrückstand wurde nach der Filtration zur Trockene verdampft, mit absolutem Alkohol extrahirt,

dieser Auszug eingedampft, mit Wasser wieder aufgenommen und diese Lösung mit Quecksilberchlorid gefällt. Das Filtrat des Quecksilberchloridniederschlages zeigte keinen alkaloidähnlichen Körper, während die entstandene Fällung, mit Schwefelwasserstoff zerlegt, eine Lösung gab, welche mit sämmtlichen in der forensisch-chemischen Praxis angewendeten Fällungsmitteln für Alkaloide Reaktion gab, beziehungsweise Fällungen.

III. Versuchsreihe.

Meine nächste Aufgabe war es nun, sowohl frische Leber, als auch frische Leberwürste allmählich der Zersetzung zu überlassen, um zu beobachten, welche Ptomaine, welche basische Körper mit dem allgemeinen Alkaloidcharakter hiebei auftreten. Es wurde zu diesem Zwecke zerquetschte Leber in einem geräumigen Kolben 18 Tage lang bei beständiger Luftzufuhr bei Temperaturen von 30—40° C. in Berührung gelassen, wobei die verwendete Luft durch concentrirte Schwefelsäure und Kaliumpermanganat geleitet wurde. Dieses Material wurde zunächst mit Wasserdampf destillirt, um den grössten Theil des freien Ammoniakes, sowie die sonstigen flüchtigen Zersetzungsprodukte zu beseitigen, hierauf wurde Magnesia im Ueberschuss zugesetzt, und nochmals mit Wasserdampf destillirt. Der Destillationsrückstand wurde im Wasserdampfe concentrirt hierauf mit Gyps gemengt, vollkommen eingetrocknet und nun mit Aether in der Wärme extrahirt. Die ätherische Lösung wurde mit saurem Wasser ausgeschüttelt, welches einen basischen Körper aufnahm, der sich in alkalischer Lösung mit Chloroform ausschütteln liess.

Inzwischen wurden auch Leberwürste bei Temperaturen von 15—24° C. an freier Luft sich selbst überlassen und zwar circa 2 Monate. Das so behandelte und veränderte Material wurde nach zwei Richtungen hin näher untersucht:

Die erste Hälfte wurde mit absolutem Alkohol in der Wärme wiederholt extrahirt. Der alkalische Auszug, durch Verdunsten zum grösten Theile vom Alkohole befreit, wurde

mit Wasser aufgenommen, alkalisch gemacht, mit Wasserdampf behandelt, hierauf wieder angesäuert, zur Trockne verdampft, hierauf mit Wasser nochmals aufgenommen und wieder mit Gyps eingedampft. Dieser trockene Rückstand mit Chloroform wiederholt extrahirt, ertheilt dem Chloroformauszug eine bläulichgrüne Fluorescenz. Dieser Chloroformauszug hinterlässt beim Verdunsten eine nicht kristallinischwerdende Masse, gefärbt, welche in Wasser löslich ist, sämmtliche Reactionen der Alkaloide zeigt, soweit dieselben sich auf die allgemeinen Fällungsmittel beziehen. Eine besonders charakteristische Reaktion zeigt dieser Körper nicht, dagegen eine scharf ausgesprochene physiologische Wirkung. Derselbe verursachte vorzüglich Krampfwirkung, Streckkrämpfe, die besonders bei Berührung des damit vergifteten Thieres auftreten.

Die zweite Hälfte wurde direkt alkalisch gemacht und mit Wasserdampf behandelt. Der Rückstand nach dieser Behandlung wurde concentrirt und mit Alkohol wiederholt ausgekocht, dieser alkoholische Auszug unter Gypszusatz eingetrocknet und hierauf mit Aether extrahirt. Beim Verdunsten des Aethers blieb eine ölartige in Wasser unlösliche Masse zurück, welche in Alkohol, Chloroform, Aether löslich war und mit Salzsäure eine kristallinische salzsaure Verbindung lieferte.

Diese Base zeigte folgende Reaktiouen: mit Quecksilberjodidjodkalium amorphe kristallinischwerdende Fällung, mit phosphormolybdänsaurem Natron geblichen Niederschlag, mit Gerbsäure Fällung, ebenso mit Wismuthjodidjodkalium, mit Platinchlorid nur in concentrirter Lösung, mit Goldchlorid gelblichweisse Fällung, mit Fröhde's Reagenz violette Eärbung. Jodsäure wird nicht reducirt, dagegen Eisenchlorid; oxydirende Agentien zeigen Nichts Charakteristisches. Charakteristisch ist für diesen Körper jedoch die Löslichkeit in Chloroform und Amylalkohol mit blaugrüner Fluorescenz.

Leber, 15 Tage der Zersetzung überlassen, zeigte bei näherer Untersuchung folgende Thatsachen:

Die fein zerschnittene Masse wurde mit Wasser ausgekocht,

das wässerige Extract stark concentrirt und hierauf mit absolutem Alkohol wiederholt aufgenommen. Die alkoholischen Auszüge wurden verdampft, mit schwach saurem Wasser aufgenommen, hierauf mit Gypszusatz eingetrocknet und diese Masse mit Aether extrahirt, welcher die sauren Salze des vorhandenen basischen Körpers nicht löst, dagegen reichlich Fette und andere Beimengungen aufnahm. An diese Extraction mit Aether reihte sich Extraktion mit Alkohol, welcher nach der Verdunstung und nach dem Alkalischmachen mit Amylalkohol ausgezogen wurde. Beim Verdunsten des Amylalkohols blieb ein Körper zurück, welcher die Alkaloidreaktionen zeigte und sich durch eine gemischte physiologische Wirkung auszeichnete, Wirkung der Ammoniumbase neben Krampfwirkung. In Folge dessen wurde dieser Körper mit schwacher Kalilauge destillirt und der Destillationsrückstand hierauf mit Amylalkohol wiederholt behandelt. Der Amylalkohol hinterliess beim Verdunsten eine amorphe Masse mit ausgesprochenen Alkaloidreaktionen, ebenso ausgesprochener physiologischer Wirkung, nämlich neben der Curare-Wirkung eine betäubende Wirkung auf das Grosshirn. Aus diesen Thatsachen, welche bei der Untersuchung Fäulniss begriffener Leber gefunden wnrden, geht unbedingt hervor, dass hier schon Leichenalkaloide, Ptomaine, vorhanden waren, welche wesentlich den Charakter von Amoniumbasen zeigten, in verhältnissmässig geringen Mengen auftreten und desshalb kaum chemisch rein zu isoliren sind. Diese hier beobachteten Ptomaine waren ausserdem theilweise flüchtig, theilweise nicht flüchtig, Es sei noch erwähnt, dass die Reindarstellung dieser Körper, welche keinerlei ausgesprochene Reaktion zeigten, nach den verschiedensten Methoden versucht, nicht möglich war. Es traten bei diesen Arbeiten immer tiefer eingreifende Zersetzungen ein.

IV. Versuchsreihe.

Die Frage der Entstehung von basischen Fäulnissprodukten bei in vorgeschrittenem Stadium der Fäulniss befindlichem Fleisch- und Lebermassen bildete den Gegenstand

einer weiteren Versuchsreihe. Pferdefleisch wurde in offenen Gefässen circa 3 Monate sich selbst überlassen und zwar in der Zeit vom 23. April bis zum 19. Juni, ebenso wurden einige Schweinslebern innerhalb derselben Zeit sich selbst überlassen.

Die Untersuchung dieser beiden Objekte, sowohl des verfaulten Pferdefleisches als auch der verfaulten Schweinsleber geschah nach folgender Methode:

Die betreffenden Objekte wurden nach Stas-Otto mit weinsäurehaltigem Alkohol wiederholt extrahirt, diese Lösungen vom Alkohol befreit und hierauf bei schwachem Ueberschuss von Kaliumhydroxyd der Destillattion unterworfen, mit Unterstützung von Wasserdampf, der Destillationsrückstand wurde stark concentrirt und wiederholt mit erwärmtem Amylalkohol ausgezogen. Dieser Amylalkoholauszug wurde durch Destillation vom Amylalkohol befreit und der hierbei verbleibende Rückstand wiederholt mit Chloroform extrahirt. Beim Verdunsten der Chloroformauszüge blieben Rückstände, welche nachstehende Reactionen zeigten. Diese Basen zeigten mit Quecksilberjodidjodkalium gelblichweisse amorphe Niederschläge, ebenso mit phosphormolybdänsaurem Natron und Wismuthjodidjodkalium, mit Gerbsäure und Platinchlorid nur in concentrirten Lösungen Fällungen. Die aus beiden Objekten erhaltenen Basen bildeten schwach gelblich gefärbte Massen, nicht krystallisationsfähig, welche in Wasser sehr schwer, in Aether ziemlich schwer, in Alkohol, Chloroform und Amylalkohol sehr leicht löslich sind. Die auf oben angegebene Weise erhaltenen Körper mussten längere Zeit sich selbst überlassen bleiben, wodurch eine dunklere Färbung eintrat, die jedenfalls mit einer weiteren Zersetzung Hand in Hand ging. Diese so veränderte Substanz wurde in verdünnter Essigsäure gelöst, das Ungelöste abfiltrirt, die essigsaure Lösung schwach alkalisch gemacht, und diese alkalische Lösung so lange mit Chloroform ausgeschüttelt, bis keine Alkaloidreaction in der erneuten Chloroformausschüttelung mehr eintrat. Der Rückstand dieser Chloroformausschüttellungen wurde mit Aether wiederholt ausgeschüttelt, bis

Nichts mehr aufgenommen wurde. Beim Verdunsten des Chloroformauszuges wurde ein basischer Körper erhalten, dessen Eigenschaften mit denen vom Ptomaine II, das unten charakterisirt ist, zusammenfallen.

Beim Verdunsten der ätherischen Lösung hinterblieb eine schwarzbrauue Base von auffallendem Nicotingeruch welcher mit dem unten beschriebenen Ptomaine I identisch ist.

Aus diesen 3 Monaten der freiwilligen Zersetzung ausgesetzten Materialien gelang es daher 3 basische Körper, Ptomaine zu gewinnen, sämmtliche von ölartiger Beschaffenheit.

a) eine schwach gelbgefärbte Base in Chloroform leicht löslich, welche ausgesprochene Wirkung besass, und zwar die sogenannte Curariwirkung, starke Lähmung der Endigung der motorischen Nerven und daneben eine betäubende Wirkung auf das Grosshirn.

b) eine schwarze harzartige nach Nicotin riechende Base, in Aether löslich mit Curariwirkung und betäubender Wirkung auf das Grosshirn.

c) eine der Base b ähnlich aussehende Base, welche bei der Neutralisation der Base b mit verdünnter Essigsäure in Wasser unlöslich geblieben ist, mit mehr gemischter Wirkung, Curariwirkung mit betäubender Wirkung auf das Grosshirn.

Ein weiteres Versuchsobjekt bildete eine grössere Menge von Würsten, welche 4 Monate, von circa Juli bis Oktober sich selbst überlassen blieben. Aus diesem Materiale wurden nach folgender Methode 2 basische Körper, Ptomaine, isolirt, welche mit den Basen a und b ganz identisch sind.

Das zerquetschte Material wurde mit weinsäurehaltigem Alkohol wiederholt extrahirt, diese Auszüge von Alkohol befreit und der erhaltene Rückstand vor Allem mit Ligroin zur Beseitigung der Fettmassen behandelt. Das Ligroin nahm keine alkaloidähnliche Substanz auf. Nach dieser Behandlung mit Ligroin wurde der hier verbleibende Rückstaud zur Trockne gebracht und hierauf wieder mit absolutem Alkohol behandelt, der erhaltene Auszug wieder vom Alkohol

befreit, mit Essigsäure enthaltendem Wasser aufgenommen, dann mit verdünter Kalilauge einige Zeit erwärmt und nun mit Chloroform wiederholt ausgeschüttelt. Nach dieser Behandlung mit Chloroform wurde die alkalische wässerige Lösung mit Aether extrahirt, welcher ebenfalls ein zweites Ptomain aufnahm. Es wurden daher auf diese Weise 2 Ptomaine mit folgenden Eigenschaften isolirt.

Ptomain I: Schwarzbraune ölartige Masse, in Wasser fast gar nicht löslich, leicht löslich in Aether, wenig löslich in Chloroform, leicht löslich in Weingeist, in Amylalkohol und Essigäther. Die allgemeinen Alkaloidfällungsmittel zeigen damit sämmtliche Reaktionen, Fröhdés Reagens veranlasst eine tief schwarzblaue Eärbung. Der Stickstoffgehalt dieses Ptomains ist 16,5%. Die physiologische Wirkung ist ganz identisch mit der Wirknng von dem oben b genannten Ptomain.

Ptomain II: Schwach gelbliche Base, kaum löslich in Wasser, löslich in Alkohol, leicht löslich in Chloroform, Amylalkohol, Glycerin, Benzol, schwer löslich, fast unlöslich in kaltem Aether, leicht löslich in Essigäther, schwer löslich in Petroleumäther. Die Salze dieser Base sind löslich in Wasser und Alkohol, in den übrigen Lösungsmitteln unlöslich nur in Chloroform wenig löslich. Diese Base zeigt die allgemeinen Alkaloidreaktionen, giebt mit conc. Schwefelsäure schwach viollette Färbung, mit Fröhde's Reagens schwach blauviolette Färbung, giebt in Lösungen Fällungen mit Kaliumbichromat, welche auf Zusatz von Schwefelsäure die Farbe nicht ändern. Jodsäure wird durch diese Base nicht reducirt, dagegen Eisenchlorid.

Diese Base ist ausserordentlich oxydationsfähig und veränderlich an der Luft, so dass dieselbe keiner weiteren Untersuchung unterzogen werden konnte.

Eine Elementaranalyse ergab im Mittel von 2 Analysen:

59,15 C.
8,95 H.
16,03 N.
15,87 O.

Die hier bei diesen verschiedenen Stadien der freiwilligen

Zersetzung beobachteten Thatsachen zeigen, dass die Zahl der verschieden charaktrisirten basischen Körper, der sogenannten Fäulnissalkaloide eine sehr grosse ist, dass diese Körper wenig Charakteristisches zur Erkennung und Nachweisung bieten. Auch ist die Herstellnng reiner Körper, frei von jeder fremden Beimengung, nicht minder der Salze mit grossen Schwierigkeiten verbunden, wenn nicht unmöglich.

Das Studium dieser manigfaltigen basischen Körper, das mehr zur Orientirung dienen sollte, vor Allem auch dazu beitragen sollte, Ptomaine zu erhalten, wurde nun verlassen, um zur Behandlung der Fragen überzugehen:

Welchen Einfluss üben die Ptomaine bei dem Nachweise der Pflanzenalkaloide und nacrotischen Bitterstoffe? Auf welche Weise können die Ptomaine bei forensischen Arbeiten beseitigt werden?

V. Versuchsreihe.

Die Ptomaine, welche bei den oben erwähnten Versuchen isolirt, besonders aus den faulen Würsten hergestellt wurden und die obenerwähnten Eigenschaften zeigten, dienten zunächst nun zu Versuchen, welche bezweckten, den Einfluss der Ptomaine auf die bis jetzt feststehenden charakteristischen Reaktionen der Alkaloide und narcotischen Bitterstoffe kennen zu lernen.

Es wurden zu diesem Zwecke die vorhandenen Ptomaine in essigsaure Salze umgewandelt und diesen Lösungen geringe Mengen der Alkaloide (durchschnittlich die Hälfte der Ptomaine) zugesetzt und hierauf versucht, die für das betreffende Alkaloid charakteristische Reaktion anzuwenden, um zu sehen, ob eine Störung der Alkaloidreaktion durch die Gegenwart der Ptomaine veranlasst wird. Gleichzeitig wurden die Ptomaine mit dem entsprechenden Reagenz geprüft.

Morphin:

Ptomaine werden durch Salpetersäure sofort gelb, durch conc. Schwefelsäure rothgelb, mit Fröhde's Reagenz blau-

violett, dann grün, mit conc. Schwefelsäure verdampft, dann mit Salzsäure versetzt und mit wenig doppelkohlensaurem Natron versetzt, gelb. Die Ptomaine reduciren Jodsäure nicht, dagegen Eisenchlorid; mit Zucker und conc. Schwefelsäure geben dieselben gelbe Färbung.

Die Mischungen von Ptomainen und Morphin geben nur absolut zuverlässige Reaktionen für Morphin mit Zucker und Schwefelsäure, wobei die violette Färbung scharf auftritt, ferner mit conc. Schwefelsäure beim Verdampfen im Wasserbade, späterem Zusatze von Salzsäure etc., wobei die violette Farbe auftritt. Jodsäure wird von Morphin bei Gegenwart von Ptomainen nur dann reducirt, wenn Ptomaine in Spuren vorhanden sind, sonst nicht.

Die übrigen Reaktionen auf Morphin sind bei Gegenwart von Ptomainen unbrauchbar.

Strychnin:

Die charakteristische blauviolette Färbung, welche durch Kaliumbichromat und Schwefelsäure bei Gegenwart von Strychnin auftritt, wird durch Ptomaine in keiner Weise beeinflusst.

Brucin:

Die Salpetersäurereaktion zum Nachweise von Brucin wird durch Ptomaine nicht beeinflusst, dagegen wohl die Einwirkung von Schwefelsäure mit späterem Zusatz von Salpetersäure, wobei die für Brucin so charakteristische Rothfärbung kaum sichtbar wird. Die Einwirkung von salpetersaurem Quecksilberoxydul beim Erhitzen auf Brucin, wobei eine violette Färbung entsteht, wird durch Gegenwart von Ptomainen nicht gestört.

Veratrin:

Die charakteristische Färbung des Veratrins durch Einwirkung concentrirter Schwefelsäure wird durch Ptomaine nicht beeinflusst, eben so wenig die durch concentrirte Salzsäure

entstehende kirschrothe Färbung, dagegen ist die Einwirkung von Zucker und Schwefelsäure bei Gegenwart von Ptomainen und Veratrin ohne Erfolg.

Atropin:

Atropin wird bei der Einwirkung rauchender Salpetersäure, späterer Concentration dieser Lösung und nachherigem Zusatze von alkoholischer Kalilauge tiefviolett gefärbt, welche Reaktion von Ptomainen keineswegs verändert wird.

Der charakteristische Geruch dagegen, welcher bei Einwirkung von Schwefelsäure auf Atropin nach dem Erhitzen auftritt, wird bei Gegenwart von Ptomainen kaum zu erkennen sein.

Narcein:

Die blutrothe Färbung des Narceins, durch conc. Schwefelsäure veranlasst, tritt nicht auf, wenn Ptomaine zugegen sind.

Colchicin:

Rauchende Salpetersäure färbt die Ptomaine rothgelb, wodurch die charakteristische violette Färbung des Colchicins durch Salpetersäure scharf auch bei Gegenwart von Ptomainen zum Vorschein kommt. Die übrigen auf Cholchicin vorgeschlagenen Reactionen, deren Zuverlässigkeit überhaupt sehr im Zweifel steht, können bei Gegenwart von Ptomainen keine Anwendung finden.

Codein:

Die blaue Färbung des Codeins durch conc. Schwefelsäure bleibt auch bei Gegenwart von Ptomainen unverändert, ebenso wird die Einwirkung der Schwefelsäure in der Wärme und bei späterem Zusatz von Salpetersäure durch Ptomaine nicht alterirt. Das Fröhde'sche Reagenz bleibt bei Codein, gemengt mit Ptomainen, unzuverlässig, indem die bläuliche Färbung sehr rasch in braun übergeht.

Aconitin:

Phosphorsäure und conc. Schwefelsäure sind bei Gegenwart von Ptomainen als Reagentien auf Aconitin wirkungslos, vollkommen unbrauchbar.

Digitalin:

Die charakteristische Nachweisungsmethode des Digitalins mittelst Sehwefelsäure und Ammoniumbromid, in dem Auftreten der charakteristisch rothvioletten Färbung bestehend, wird bei Gegenwart von Ptomainen resultatlos.

Pikrotoxin:

Dte reducirenden Wirkungen des Pikrotoxins gegenüber alkalischer Kupfersulfatlösung werden durch die Gegenwart von Ptomainen in hohem Grade beeinträchtigt, ebenso die anderen vorhandenen Reaktionen,

Delphinin:

Das Verhalten des Delphinins gegen Schwefelsäure und Bromwasser, sowie das Fröhde'sche Reagens wurden durch Ptomaine in hohem Grade beeinflusst, so dass Delphinin durchaus nicht nachweisbar bleibt.

VI. Versuchsreihe.

Die Thatsache, dass die Scheidung von Ptomainen, von Alkaloiden und narkotischen Bitterstoffen, kaum durch eine zuverlässige Arbeit bis jetzt zu erreichen ist, gab Veranlassung zu einer neuen Versuchsreihe, welche ausschliesslich den Zweck hatte, Methoden aufzufinden, um die Ptomaine von den Alkaloiden zu trennen. Zunächst lag der Gedanke nahe, die Mischungen der Alkaloide und Ptomaine in schwach schwefelsaurer Lösung mit oxydirenden Agentien zu behandeln, ohne dass der Alkaloidnachweiss hiedurch gestört würde. Es wurden verdünnte Lösungen von Kaliumpermanganat, auch Bleichyperoxyd versucht, jedoch ohne Erfolg, da sich herausstellte, dass die Oxydation wohl möglich war,

aber gleichzeitig auch das Alkaloid sehr stark angegriffen und verändert wurde.

Die Anwendung von basischen Bleiacetat, auch frisch gefälltem Bleioxyd als Reinigungsmaterial, beziehungsweise Abscheidungsmittel für färbende Stoffe, event. auch Ptomaine wurde bei verschiedenen Versuchen in Betracht gezogen.

Zunächst wurden 2 Liter Bier mit Ptomainlösung, sowie etwa 0,03% Morphin (zuvor in Essigsäure gelöst) versetzt. Von dieser Mischung wurden etwa 1 Liter mit überschüssigem basischem Bleiacetat ausgefällt, das Filtrat mit Natriumsulfat von Blei befreit. Das Filtrat dieser Bleisulfatfällung wurde im Wasserbade eingedampft mit Gyps vermischt und nun vollkommen ausgetrocknet. Dieser trockne Rückstand wurde nun mit Essigsäure angesäuert wieder getrocknet, mit Aether im Soxhlet'schen Apparate 24 Stunden extrahirt, der hierbei erhaltene Rückstand nun alkalisch gemacht und die Extraction derselben zuerst mit Aether, dann mit Chloroform, endlich mit absolutem Alkohol wiederholt und zwar je 12 Stunden mit diesen drei Lösungsmitteln. Das hierbei erhaltene Resultat war folgendes:

1) Der Aetherauszug aus der sauren Gypsmasse enthielt nur saure Ptomaine u. Farbstoff.

2) Der Aetherauszug aus der alkalischen Gypsmasse enthielt nur Spuren von Ptomainen, kein Morphin.

3) Der Chloroformauszug hatte den grösten Theil des Morphins aufgenommen und zwar fast ungefärbt, so dass sämmtliche Reaktionen des Morphins mit aller Schärfe hervortraten. —

4) Der Alkoholauszug enthielt nur geringe Menge von Morphin.

Die Fällung mit basischem Bleiacetat, wie oben erwähnt, erhalten, war frei von Morphin, enthielt nur geringe Mengen der Ptomaine.

Ein zweiter Versuch wurde mit einer Mischung von Bier, Mageninhalt einer Leiche unter Zusatz von circa 0,03 Strychnin durchgeführt. Hier wurde zunächst das gesammte Material zur Trockne eingedampft, mit Weinsäure haltigem

Alkohol extrahirt, diesem Auszuge frisch gefälltes Bleihydroxyd zugesetzt, hierauf vollkommen eingetrocknet. Der trockene Rückstand wurde mit schwefelsäurehaltigem Wasser aufgenommen, diese Lösung mit Natriumcarbonat schwach alkalisch gemacht und nun wieder mit Essigsäure angesäuert, mit Gypszusatz eingetrocknet. Die schwach saure Masse wurde nun wieder mit Aether ausgekocht, hierauf, wie beim letzten Versuche je 12 Stunden, hierauf nach zuvorigem Uebersättigen mit Alkali mit absolutem Aether, Chloroform und absolutem Alkohol in der Wäme im Soxhlet'schen Apparate behandelt. Hier zeigte sich nun, dass der Aetherauszug der sauren Gypsmasse nur Ptomaine, Farbstoff und ganz minimale Spuren von Strychnin enthielt, der absolute Aether bei Gegenwart von Ptomainen kein Strychnin aus der alkalischen Masse aufgenommen, Chloroform das Stychnin wieder vollkommen rein ohne Ptomaine gelöst hatte. Der absolute Alkohol enthielt nur Spuren des Alkaloides.

Das rückständige Bleihydroxyd enthielt weder Ptomaine noch Alkaloid.

Ein dritter Versuch, mit einer Ptomainlösung von schwarzbrauner Farbe, aus faulen Würsten hergestellt, unter Zusatz von 0,4 Atropin, 0,4 Strychnin und 0,4 Morphium durchgeführt, zeigte folgenden Verlauf:

Circa 500 cc. Flüssigkeit wurde mit basischem Bleiacetat im Ueberschuss versetzt, das Filtrat mit Natriumsulfat entbleit, hierauf mit Gyps eingetrocknet und zuerst in saurem Zustand mit Aether 12 Stunden, dann dieselbe Gypsmasse in alkalischem Zustande, wie oben mit absolutem Aether, Chloroform und absolutem Alkohol heiss ausgezogen. Die verzielten Resultate waren folgende:

Der Aetherauszug aus dem angesäuerten Gypse enthielt vorwiegend Ptomaine, Farbstoff, Spuren von Atropin und Strychnin. Der absolute Aether hatte reichlich Atropin, wenig Strychnin, noch etwas Ptomaine aufgenommen, Chloroform löste fast farblos Strychnin, Spuren von Atropin, wenig Morphin, der absolute Alkohol nahm noch Morphin auf.

Auch hier war der Bleiniederschlag frei von Alkaloid,

enthielt wenig Ptomaine. Die Aehnlichkeit des Delphinins mit Ptomainen, welche wiederholt auf Grund der beobachteten Erfahrungen vorhanden zu sein scheint, führte noch zu einem Versuche, welcher das Verhalten der sauren Salze der Ptomaine und des Delphinins charakterisiren sollte.

Delphinin und Ptomaine in Essigsäure gelöst wurden mit Gyps eingetrocknet und diese stets sauer gehaltene Masse mit Aether, Chloroform, auch Benzol heiss extrahirt. Es zeigte sich, dass die sauren Ptomainsalze und sauren Delphininsalze in Aether, auch in Chloroform leicht löslich sind, dagegen Benzol die sauren Delphininsalze leicht aufnimmt, dagegen nicht die sauren Ptomainsalze.

Die bis jetzt durch diese Versuchsreihen V und VI gewonnenen Resultate berechtigen, bei forensischen Arbeiten zum Zwecke des Nachweises der Alkaloide mit Berücksichtigung der Ptomaine folgende Arbeiten zu empfehlen und nachstehende Thatsachen festzustellen:

1) Die Stas-Otto'sche Extractionsmethode wird stets die erste Arbeit bleiben;

2) Empfehlenswerth bleibt das Erhitzen beziehungsweise Destillation der sauren Auszüge nach Beseitigung des des Alkohols mit Magnesiumoxyd oder Calciumhydroxyd zur Beseitigung von Amminen und flüchtigen Ptomainen.

3) Basisches Bleiacetat, sowie frischgefälltes Bleihydroxyd eignen sich zur Beseitigung von Farbstoffen, sowie sonstigen Verunreinigungen aus Flüssigkeiten, die bei forensischen Arbeiten in Betracht kommen, sehr gut, indem dieselben keine Alkaloide zurückhalten.

4) Die Anwendung von Gypspulver beim Eintrocknen von Lösungen zum Zwecke der Extraction mit Chloroform, Aether etc. bewährt sich in hervorragender Weise, ebenso die Anwendung dieser allgemeinen Lösungsmittel innerhalb 12—24 Stunden und zwar in der Siedhitze.

5) Ans schwach angesäuerten Massen lassen sich die bei der Fäulniss von Leber, Fleischmasse bildenden Ptomaine nach längerer Extraction mit siedendem Aether

von den Alkaloiden fast vollständig trennen, indem die Ptomaine in Lösung gehen.

5) Die Gegenwart von Ptomainen beeinträchtigt den Nachweis verschiedener Alkaloide in hohem Grade, wie die obige Versuchsreihe No. V zeigte.

6) Weitere Versuche über die Beseitigung der Ptomaine beim Nachweise der Alkaloide führten zu einer Beobachtung, welche dahin geht, dass ätherische Lösungen von Alkaloiden mit Ptomainen nach Zusatz von entsprechenden Mengen gesättigter ätherischer Oxalsäurelösung nach längerem Stehen das Alkaloid in Form eines sich krystallinisch ausscheidenden Oxalates vollkommen verlieren, während die Oxalate der Ptomaine in Lösung bleiben.